

Untersuchungen über den
Einfluß des Natrium-Salicylatès
auf die Hyaluronidase-Aktivität
unter Adrenalininfusionen

Günter Mangold

1965

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554023_0101

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
München
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Untersuchungen über den Einfluß des
Natrium-Salicylates auf die Hyaluronidase-
Aktivität unter Adrenalininfusionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Günter Mangold
aus
Neuenbürg/Württ.

1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: **Professor Dr. M. Kiese**

Tag der mündlichen Prüfung: **2. Juli 1967**

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Problematik	5
Eigene Versuche	12
Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse	18
Diskussion	28
Zusammenfassung	30
Literaturverzeichnis	31



Problematik

Die Tatsache, daß antirheumatisch wirksame Substanzen wie Salizylate, Phenylbutazon, Oestron-sulfat, Chlorbenzmethaxozon, Corticoide, Moorbäder u.a. eine hyaluronidasehemmende Eigenschaft besitzen, war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen von M a t h i e s (1-18) und Mitarbeitern, mit dem Ziel, diesen Wirkungsmechanismus näher aufzuklären. Die Versuche wurden an intakten, adrenalektomierten und hypophysektomierten Ratten durchgeführt, wobei eine auf dem Spreading-Effekt beruhende Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel-methode angewandt wurde. Hierbei zeigte sich, daß die bei intakten Ratten gefundene hyaluronidasehemmende Wirkung der o.a. antirheumatischen Substanzen bei adrenalektomierten Tieren ausblieb, bei hypophysektomierten Tieren jedoch erhalten war. Daraus konnte zunächst lediglich geschlossen werden, daß die Nebenniere (NN) für eine in vivo auftretende Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität erforderlich ist, wobei die Frage, ob dieser Effekt an das Nebennierenmark (NNM) oder die Nebennierenrinde (NNR) gebunden ist, noch offen blieb.

Nach S a y e r s (19) ist die Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der NN als Ausdruck für die innersekretorische Aktivität der NNR zu werten. Untersuchungen von D o m e n j o z (20), M a t h i e s (7) und J u n g (21) ergaben, daß dieser Ascorbinsäuredepletionseffekt bei intakten Ratten nach Applikation von antirheumatisch wirksamen Substanzen deutlich ist, bei hypophysektomierten Tieren jedoch ausbleibt, obwohl eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität erhalten ist. Da das Vorhandensein des gesamten Nebennierenorgans für die hyaluronidasehemmende Wirkung der genannten Substanzen notwendig zu sein scheint, blieb ein über das Nebennierenmark laufender Mechanismus anzunehmen, wahrscheinlich über eine Ausschüttung von NNM-Katechol-

aminen. Diese Annahme wurde durch Untersuchungen von Mathies (11), Jankowsky (2), Scheufele (22) und Schmidt (23) bestätigt. Es zeigte sich nämlich, daß die beiden Nebennierenmarkhormone Adrenalin und Noradrenalin ebenfalls in der Lage sind, eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität hervorzurufen, und zwar sowohl bei intakten als auch bei adrenalektomierten Ratten. Die Hemmung lag hierbei in einer Größenordnung, wie man sie auch nach Gaben in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen findet. Interessanterweise entfalten beide Katecholamine bei gleicher Dosierung auch eine annähernd gleiche Wirkung in bezug auf ihre hyaluronidasehemmende Eigenschaft. Dies steht im Gegensatz zu den sonst bekannten Effekten der beiden Hormone.

Mittels einer von Brügge mann, Karg und Käppeler (24) angegebenen chemisch-photometrischen Methode zur Bestimmung des Katecholamingehaltes der NN, konnte die Annahme einer Hyaluronidasehemmung auf Grund einer Katecholaminausschüttung weiter gestützt werden. So fand Mathies (7) eine Abnahme des NN-Katecholamingehaltes nach Gaben verschiedener hyaluronidasehemmender Substanzen und konnte feststellen, daß die Ausschüttung entweder auf Kosten des in der NN vorhandenen Normaldepots geschah, wie bei der Salicylsäure, oder, wie im Falle des Phenylbutazon auf Grund einer vermehrten Bildung von Katecholaminen mit Ausschüttung des Überschusses. Nach Moorschwebstoffbädern und nach Chlorbenzmethaxozon erfolgte die Ausschüttung sowohl auf Kosten einer vermehrten Katecholamin-Neubildung als auch auf Kosten des Normaldepots.

Weitere Versuche von Schmidt (23,15), Poulantzas (26, 15) und Lingna u (27) haben gezeigt, daß nach Gabe von Ergotamin-tartrat als Adrenolyticum die Hyaluronidasehem-

mung durch Na-Salicylat, Prednisolon und Moorbäder ausbleibt. In Untersuchungen am Menschen fanden W e i ß (28) und V o g e l (29) desgl. eine Blockierung der Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin nach Gaben von Ergotamin-tartrat.

Nach den Feststellungen von B e i n und M e i e r (30), wonach durch Ganglienblocker die synaptische Übertragung von den NN-Nerven auf die Markzellen beeinflußt wird, was wiederum eine Hemmung der nervös bedingten Ausschüttung von Pressorhormonen zur Folge hat, war nach der Applikation eines Ganglienblockers der gleiche Effekt wie nach Adrenalektomie zu erwarten. Dies konnte in den Versuchen von O e s t r e i c h (31) und S c h w a l b a c h (32) auch nachgewiesen werden. Sie fanden, daß bei intakten Ratten nach Gaben von Pendiomid als Ganglienblocker die hyaluronidasehemmende Wirkung verschiedener antirheumatischer Substanzen blockiert wird, die gleiche Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin jedoch erhalten bleibt. Somit sprechen auch diese Ergebnisse für einen über das NNM laufenden Mechanismus bezüglich der Wirkungsweise in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen.

Weitere Untersuchungen von S c h e u f e l e (22) ergaben, daß nach i.v. Injektion von Adrenalin und Arterenol die Hyaluronidasehemmung erst nach Abklingen der primären Katecholaminwirkung - sichtbar an der Pupillenreaktion - in der Gegenregulationsphase erkennbar wird. Es konnte auch gezeigt werden, daß bei höheren Katecholamindosen das Maximum der Hemmung später auftritt als bei niedrigen Dosen, was dadurch erklärt werden kann, daß niedrige Dosen schneller abgebaut werden und die Gegenregulation früher einsetzt.

Diese Ergebnisse könnten sich mit Beobachtungen von F e l l i n g e r und S c h m i d (33) decken, die diese insbesondere auf balneologischem Gebiet gemacht haben. Sie stellten fest, daß nach Moorbä-

dern und anderen antirheumatischen Therapeutica eine antirheumatische Wirkung erst in der vagalen Gegenregulation, im Anschluß an eine primär sympathicotone Phase sichtbar wird. Die Frage, ob nicht überhaupt die primäre Einstellung einer vagalen Reaktionslage ausschlaggebend ist für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung, war Gegenstand der Untersuchungen von K r a m e r (34). Um bei seinen Versuchstieren eine reaktive Katecholaminausschüttung aus dem NNM auszuschließen, verwandte er adrenalectomierte Ratten, welchen er Acetylcholin + Prostigmin als Cholinesterasehemmer applizierte. Da bei diesen Versuchen keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität festzustellen ist, ist eine primäre Einstellung einer vagalen Reaktionslage für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung nicht anzunehmen.

Weitere interessante Erkenntnisse brachten die Untersuchungen von M a t h i e s und S c h l i e r f (13). Sie legten adrenalectomierten Ratten eine zweistündige Adrenalindauerinfusion an und fanden, daß die Hyaluronidasehemmung im gewohnten Zeitabstand nach Absetzen der Adrenalinapplikation auftritt, womit sie zunächst schon frühere, mittels der Pupillenreaktion gewonnene Ergebnisse bestätigten. Wurden nun aber während der Infusion Adrenalin "Spitzen" gesetzt, so konnte noch während der Infusion eine Hyaluronidasehemmung festgestellt werden, die jeweils im gewohnten Zeitabstand nach Setzen der "Spitze" auftrat. Diese Ergebnisse legen den Schluß nahe, daß für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung das Absinken des Katecholaminblutspiegels von einem höheren auf ein niedrigeres Niveau notwendig ist. Wie die Versuche zeigten, ist dabei nicht der Rückgang des Adrenalinspiegels auf das Ausgangsniveau erforderlich, denn auch der Abfall eines vorübergehend über ein bereits überhöhtes Niveau gestei-

gerten Adrenalinpiegels ist von einer Hyaluronidasehemmung gefolgt. Die Tatsache, daß es bei intakten Ratten unter einer Adrenalin-dauerinfusion ebenfalls zu einer Hyaluronidasehemmung noch während der Infusion kommt, führt M a t h i e s (18) darauf zurück, daß sich hier während der Infusion eine "Spitze" ausbildet, die durch eine zusätzliche Ausschüttung von NN-Katecholamin zustandekommt.

Für diese Möglichkeit sprechen sich auch F o r s t (35) und M a r l o r n i (36) aus.

Untersuchungen von M e c k e l (37) und E c k e l m a n n (38) mit Reserpin, sowie von R e i n d l (39) mit Monoaminoxidase-Inhibitoren, berechtigen zu der Annahme, daß auch das Absinken des physiologischen Katecholaminblutspiegels zur Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität führt.

Indessen blieb weiterhin ungeklärt, welche Mechanismen oder Substanzen in der "Gegenregulationsphase" zur Wirkung kommen und schließlich die Hyaluronidasehemmung herbeiführen. So wurde das Heparin einer näheren Betrachtung unterzogen. Die hyaluronidasehemmende Wirkung dieser Substanz war vom in-vitro-Versuch bekannt und konnte von M a t h i e s (7, 16) und Mitarbeitern (28, 29) auch im Tierversuch an intakten und adrenaletomierten Ratten nachgewiesen werden. Es zeigte sich, daß die Hemmung des Hyaluronidase-Spreading durch Protaminsulfat als heparin-inaktivierender Substanz aufgehoben wird und daß auch die spreadinghemmende Wirkung der oben genannten Substanzen, einschließlich des Adrenalin und Noradrenalin, durch Protaminsulfat blockiert wird. Damit ist die Möglichkeit einer Beteiligung des Heparins am Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen gegeben. Auch eine Mitwirkung des Histamins, daß sich wie das Heparin in den Mastzellen befindet, wurde im Rahmen dieser Frage diskutiert. K o n t i s (40) konnte zeigen, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Histamins durch Avil als Antihistaminicum im Rattenversuch aufgehoben wird bzw. negative Werte annimmt. Untersuchungen von A h l h e i m (41) haben ergeben, daß Avil

auch den hyaluronidasehemmenden Effekt des Phenylbutazon, des Prednisolon, des Natrium-Salicylats, des Cestronsulfates und der im Moor wirksamen Substanzen aufhebt. Während W e i ß (28) nachgewiesen hat, daß beim Menschen die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin nach Avilgabe verschwindet, konnte dies von K i r à l y (42) bei Rattenversuchen nicht bestätigt werden.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann die Beteiligung von Heparin und Histamin beim Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung durch Antirheumatica in Betracht gezogen werden. Weitere Versuche von M a t h i e s (16) lassen indessen erkennen, daß in die Kette von Substanzen, die schließlich die Hyaluronidasehemmung herbeiführen, Heparin und Histamin nicht hintereinander einzuordnen sind, sondern, daß vielmehr beide Substanzen in einer Art Wechselwirkung zu stehen scheinen.

Für die vorliegende Arbeit waren frühere Untersuchungen mit Reserpin von besonderem Interesse. E c k e l m a n n (38) stellte fest, daß Reserpin zu einer Hemmung des Hyaluronidasespreadings führt, die durch Ergotamintartrat und Ganglienblocker nicht aufzuheben ist. Andererseits blockiert Reserpin nach den Versuchen von M e c k e l (37) die vom Phenylbutazon, Natrium-Salicylat und Adrenalin bekannte hyaluronidasehemmende Wirkung. Dieses Verhalten konnte mit den geschilderten Voraussetzungen für das Auftreten einer Hyaluronidasehemmung nicht erklärt werden. Das Absinken eines vorübergehend erhöhten Adrenalinblutspiegels im Anschluß an eine Adrenalinausschüttung aus dem NNM scheidet aus, da die angenommene Ausschüttung durch Ganglienblocker unterbunden und das evtl. ausgeschüttete Adrenalin durch Ergotamin unwirksam würde. Außerdem ist eine Blutdrucksteigerung durch Reserpin, wie diese nach einer solchen Ausschüttung zu erwarten wäre, nicht bekannt. Es konnte deshalb angenommen werden, daß

der Blutadrenalin Spiegel nach Reserpin unter das Normalniveau absinkt und daß durch diese Niveaudifferenz die Hyaluronidasehemmung ausgelöst wird. Gleichzeitig ist anzunehmen, daß etwa durch Phenylbutazon und Natrium-Salicylat ausgeschüttete Katecholamine durch Reserpin unwirksam werden, da auch experimentell zugeführtes Adrenalin nach Reserpingabe seine hyaluronidasehemmende Wirkung verliert. Wenn trotzdem von verschiedenen Autoren, wie K r o n e b e r g und S c h ü m a n n, Z b e n d e r und S t u d e r, S c h m i d t, H o l t z, C a l l i n g h a m und M a n n, M a x w e l l, P l u m m e r, O s b o r n e und R o s s e und K r o n e b e r g (43-49) ein Absinken des Katecholamingehaltes des NNM nach Reserpin beschrieben wird, so können die Befunde von E c k e l m a n n (38) und M e c k e l (37) nicht allein durch eine Blockade der Adrenalin-ausschüttung erklärt werden.

B u r g e r (50) beschreibt ein Absinken des Katecholamingehaltes des Blutplasmas nach Reserpin, und P l e t s c h e r (51) konnte feststellen, daß nach Gaben von Iproniacid die durch Reserpin bedingte Katecholaminverarmung des Gehirns abgeschwächt wird. Auch andere Autoren (49, 52-55) haben eine Abnahme des Katecholamingehaltes verschiedener Gewebe nach Reserpin beobachtet und damit dieser Substanz eine allgemein katecholaminverringende Wirkung zugeschrieben. Auf Grund dieser Ergebnisse kann auch ein peripherer Mechanismus für den hyaluronidasespreddinghemmenden Effekt von Reserpin in Frage kommen, vielleicht im Sinne einer peripheren Sympathikusblockade, wie sie von G e n n i n g (56) diskutiert wird.

Gerade im Hinblick auf diese Frage sollte in vorliegender Arbeit untersucht werden, ob Natrium-Salicylat in der Lage ist, eine periphere Reaktion auszulösen, die zu einer Hyaluronidasehemmung führt. Eine derartige Hemmung der Hyaluronidaseaktivität müßte bei der gewählten Versuchsanordnung mit adrenaletomierten Ratten noch während der angelegten Adrenalindauerinfusion auftreten.

Eigene Versuche

Methodik:

Es wurden männliche, weiße Ratten im Gewicht von 180 bis 240 g verwendet. Sämtliche Versuche wurden an adrenalektomierten Tieren vorgenommen. Zur Durchführung der Adrenalektomie wurden die Tiere mit Äther narkotisiert. Die Nebennieren wurden einzeln von dorsal angegangen, aus dem Fettgewebe des Nierenlagers freipräpariert und exstirpiert. Danach wurden Muskulatur und Haut durch enggelegte Einzelknopfnähte dicht verschlossen. Es zeigte sich, daß die Entfernung der Nebennieren bei schwereren Tieren durch die stärkere Verfettung des Nierenlagers etwas schwieriger ist als bei leichteren. Nach der Operation wurden die Tiere mit Hafermark und Zuckerkohlehydratreich ernährt, und erhielten zur Aufrechterhaltung des Ionenhaushaltes physiologische Kochsalzlösung als Trinkflüssigkeit. Die adrenalektomierten Tiere wurden 48 Stunden nach dem Eingriff in Versuch genommen, da nach Untersuchungen von K a r g (57) auf Grund von Messungen des nebennierenbedingten Grundumsatzes und der Ergebnisse des Thorn-Testes in dieser Zeit eine Regeneration von funktionstüchtigem, akzessorischem Nebennierengewebe kaum zu erwarten ist. Innerhalb von zwei bis vier Tagen nach der Adrenalektomie zeigt der Grundumsatz sein Minimum und der Thorn-Test ist negativ. Der Grundumsatz steigt erst nach dieser Zeit wieder an. C a n a l i s (58) sah bei Hunden und Kaninchen erst zwei Tage nach Teiladrenalektomie die erste Zunahme der Mitosen. Nach B a c h m a n n (59) zeigen 8 % der normalen Ratten mikroskopisch feststellbare, akzessorische Rindenknötchen unterschiedlicher Lokalisation, dagegen längere Zeit nach Adrenalektomie 20-25-70 % der Tiere. Die Hyaluronidasehemmung wurde durch die Anwendung eines Spreading-Testes gemessen. Die Versuche wurden in einer kombinierten Evipan-Luminal-

Narkose durchgeführt, wobei pro 100g Tiergewicht 30mg Evipan-Natrium und 8,8mg Luminal s.c. injiziert wurden. Ein Einfluß von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nach W i l h e l m i (60) nicht. Es wurden zunächst je eine intrautane Quaddel von 0,1ccm einer 0,06%igen Evansblaulösung und eine Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff + Hyaluronidaselösung wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin), enthaltend 150 IE, in 2 ccm der obengenannten 0,06%igen Evansblaulösung gelöst, so daß bei der Injektion von 0,1 ccm 7,5 IE zur Wirkung kamen. Das Setzen der Quaddel erfolgte streng intracutan mit einer feinen Kanüle in die mit Pilca schonend enthaarte Bauchhaut. 10 Minuten nach der Injektion wurde die Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff - sowie der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel an der erreichten Ausbreitung registriert, indem die Konturen auf einen gewaschenen Röntgenfilm übertragen und planimetrisch ausgemessen wurden. Nach M a d i n a v e i t i a (61) verläuft das Spreading zweiphasisch, und lediglich die innerhalb der ersten 10 Minuten ablaufende Reaktion ist sicher ein echter Effekt der Hyaluronidase. G i b b i a n (62) vertritt die Ansicht, daß die durch Hyaluronidase verstärkte aktive Diffusion einer intrakutan gesetzten Quaddel auf dem Druck beruht, den das Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt. Nach Ablauf der ersten 10 Minuten dürften dann Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen.

Die Adrenalindauerinfusion in die freigelegte Femoralvene erfolgte durch eine feine Kanüle. Diese war über einen dünnen Gummischlauch mit einer Tuberkulinspritze verbunden. Dadurch war eine Dauerinfusion auch über mehrere Stunden technisch gut möglich. Die jeweilige Anfangsdosis wurde mit 1 Gamma/1. Min. injiziert, dann wurden weiter 0,5 Gamma/min. verabfolgt. Die Injektionsflüssigkeit

enthielt in 0,05 ccm physiologischer Kochsalzlösung 0,5 Gamma Adrenalin.

Während der Infusion wurde streng darauf geachtet, daß die pro-Zeit-Einheit zu infundierende Lösungsmenge kontinuierlich verabfolgt wurde, um das Setzen von Spitzen zu vermeiden.

I. Versuchsreihe (reine Adrenalindauerinfusion)

1. Gruppe:

Es wurden den adrenalektomierten Tieren vor dem eigentlichen Versuch eine reine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten bestimmt. Danach Anlegen einer Adrenalindauerinfusion über 55 Minuten. 15 und 45 Minuten nach Infusionsbeginn Setzen eines Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddelpaares, das jeweils 10 Minuten später abgelesen wird, also 25 bzw. 55 Min. nach Infusionsbeginn.

2. Gruppe:

Versuchsanordnung wie in erster Gruppe, jedoch mit verlängerter Adrenalininfusion über 90 Minuten. 75 und 90 Minuten nach Infusionsbeginn Setzen eines Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddelpaares, das wiederum 10 Min. nach dem Setzen abgelesen wird.

3. Gruppe:

Versuchsanordnung wie bei zweiter Gruppe, jedoch Setzen des Quaddelpaares 15 Min. nach Absetzen der Infusion (= 105 Min. nach Infusionsbeginn) und 30 Min. nach Absetzen der Infusion (= 120 Min. nach Infusionsbeginn).

II. Versuchsreihe (Adrenalindauerinfusion + Natrium-Salicylat)

1., 2. und 3. Gruppe wie in erster Versuchsreihe, jedoch mit subcutaner Injektion von Natrium-Salicylat in einer Konzentration von 50mg/100 g Tiergew., jeweils 10 Min. nach Infusionsbeginn.

I. Versuchsreihe

1. Gruppe

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	15' nach	45'	vor	15' Infusionsbeginn	45'
1	115	120	119	180	170	170
2	112	110	100	150	160	110
3	95	95	93	180	170	205
4	135	120	122	165	195	160
5	130	125	120	200	175	192
6	122	110	130	160	165	160
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-} \%$					0	-3

- Tabelle 1 -

Adrenalininfusion über 55 Min.

2. Gruppe

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	75' nach	90'	vor	75' Infusionsbeginn	90'
1	150	175	155	202	230	210
2	146	122	148	200	185	178
3	145	150	140	190	210	220
4	192	186	175	240	242	248
5	139	145	140	195	200	174
6	132	145	150	180	218	200
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-} \%$					+6	+2

- Tabelle 2 -

Adrenalininfusion über 90 Min.

I. Versuchsreihe

3. Gruppe

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	105 ' nach	120 '	vor	105 ' Infusionsbeginn	120 '
1	151	157	130	193	170	125
2	142	130	121	201	152	145
3	144	130	132	178	198	198
4	170	148	146	215	164	157
5	137	130	132	181	169	132
6	121	112	110	184	158	125
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-}$ %					-12	-23

- Tabelle 3 -

Infusion wurde nach 90 Min. abgesetzt

II. Versuchsreihe (Applikation von Na-Salicylat 10 Min. nach Infusionsbeginn 50 mg/100 g Tiergew.)

1. Gruppe

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	15 ' nach	45 '	vor	15 ' Infusionsbeginn	45 '
1	170	166	189	270	260	267
2	150	144	118	218	237	238
3	146	144	150	233	224	230
4	160	151	124	228	219	211
5	151	162	147	230	245	239
6	158	149	137	245	230	246
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-}$ %					-1	+1

- Tabelle 4 -

II. Versuchsreihe (Fortsetzung)

2. Gruppe

Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	75' nach	90'	vor	75' Infusionsbeginn	90'
1	141	140	151	223	214	232
2	155	154	165	191	204	190
3	140	136	140	131	226	228
4	144	127	137	193	213	187
5	138	128	142	226	215	217
6	140	131	137	198	201	195
7	152	127	123	239	198	175
8	133	115	128	182	175	228
9	130	142	132	243	240	209
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-}$ %					+3	+2

- Tabelle 5 -

3. Gruppe

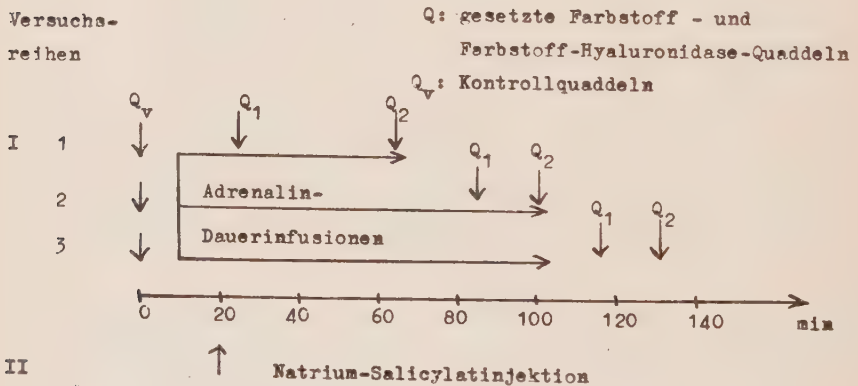
Tier Nr.	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase- Quaddel		
	vor	105' nach	120'	vor	105' Infusionsbeginn	120'
1	145	149	167	230	181	195
2	132	150	150	216	208	190
3	166	168	150	248	172	150
4	165	130	128	207	207	196
5	150	141	142	212	226	232
6	166	164	166	211	225	225
7	145	120	150	190	196	216
8	155	145	135	204	197	213
9	114	124	115	188	191	204
10	148	130	127	239	192	175
11	147	128	133	188	213	172
Ausbreitung/Hemmung $\frac{+}{-}$ %					-5	-7

- Tabelle 6 -

Infusion wurde nach 90 Min. abgesetzt

I. Problemstellung für die statistische Auswertung

Die biologische Frage nach der Hyaluronidaseaktivität bei Adrenalininfusionen und ihre Beeinflussung durch Applikation von Na-Salicylat an adrenaletomierten Ratten ist durch die nachstehend dargestellte Versuchsanordnung des Spreading-Tests erfaßt.



Darstellung 1:

Versuchsanordnung zur Beobachtung der Hyaluronidaseaktivität bei Adrenalindauerinfusionen (I) unter Einwirkung von Na-Sylicylat (II)

Durch Anordnung der Quaddeln in lateinischen Quadraten und durch Kontrollwerte sind die Messreihen der statistischen Auswertung zugänglich, so daß beobachtete Veränderungen auf ihre Zufälligkeit hin geprüft werden können.

II. Mathematisch statistische Methodik

Die vorliegenden Messreihen werden zunächst durch die statistischen Messzahlen Mittelwert $\bar{x}$ und

mittlere quadratische Abweichung (m.q.A.) s_x^2 beschrieben. Für die Prüfung von Unterschieden sind die Einflüsse versuchsbedingter Variabilitäten zu berücksichtigen. In einer zweifachen Varianzanalyse läßt sich die Gesamtvarianz nach drei Komponenten hin trennen und damit unter Berücksichtigung des Einflusses der Variabilität zwischen den Tieren und der Komponente zwischen den Stufen eine Restvarianz finden, die als methodische Variabilität bezeichnet werden kann. Aus ihrem Verhältnis zur Komponente zwischen den Beobachtungsstufen ist mittels des Quotiententests ($F_{emp.}$) nach Fisher auf tatsächlich bestehende Unterschiede zwischen den Beobachtungen verschiedener Zeiten zu schließen, soweit die zugelassene Irrtumswahrscheinlichkeit $p = 0.05$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung nicht überschritten wird.

Als Ergebnis der mathematisch statistischen Analyse sind die Freiheitsgrade FG der Varianzkomponente, Summenabstandsquadrate SAQ und Mittlere Abstandsquadrate MAQ, die Varianzquotienten $F_{emp.}$ zwischen jeweiliger Komponente und Restvarianz, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben, die ein Maß der Sicherheit für die getroffene Entscheidung (Differenz der Mittelwerte $\bar{x}_d = 0$) darstellt.

Die Ausbreitung der Quaddeln in % bezieht sich auf die beobachteten zugehörigen Kontrollwerte (100%).

III. Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen

1. In den folgenden Tabellen 1 bis 3 sind die Messergebnisse der experimentellen Untersuchungen durch Mittelwerte $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichungen (m.q.A.) s_x^2 beschrieben und die Messwerte der Farbstoffausbreitung bezüglich ihrer Kontrollen K in % angegeben.

Farbstoff-Quaddeln

Ver- suchs- reihe	Anzahl der Tiere	Zeit t nach Versuchsbe- ginn (min)	Mittel - x	m.q.A $s = \frac{s}{x}$	Ausbr./ Hemmg. $\pm \%$
I.Gr.1	6	K	118.1	5.8	
	6	15'	113.3	4.4	-4
	6	45'	114.0	5.8	-3
Gr.2	6	K	150.6	8.6	
	6	75'	153.8	7.6	+2
	6	90'	151.3	5.3	0
Gr.3	6	K	144.1	6.6	
	6	105'	134.5	6.4	<u>-7</u>
	6	120'	128.5	4.9	<u>-11</u>

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln

I.Gr.1	6	K	172.5	7.2	
	6	15'	172.5	4.9	0
	6	45'	166.1	13.4	-3
Gr.2	6	K	201.1	8.4	
	6	75'	214.1	7.9	<u>+6</u>
	6	90'	205.0	11.2	<u>+2</u>
Gr.3	6	K	192.0	5.7	
	6	105'	168.5	6.5	<u>-12</u>
	6	120'	147.0	11.4	<u>-23</u>

Tabelle 1: Kontrollwerte K und Messwerte der Farbstoffausbreitung unter Adrenalin-dauerinfusion

Farbstoff-Quaddeln

Ver- suchs- reihe	Anzahl der Tier	Zeit t nach Versuchsbe- ginn (min)	Mittel - x	m.q.A. s- x	Ausbr./ Hemmg. + %
II.Gr.1	6	K	155.8	3.5	
	6	15'	152.6	3.8	-2
	6	45'	144.1	10.3	-7
Gr.2	9	K	141.4	2.6	
	9	75'	133.3	3.7	-5
	9	90'	139.4	4.1	-1
Gr.3	11	K	148.4	4.6	
	11	105'	140.8	4.8	-5
	11	120'	142.0	4.9	-4

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln

II.Gr.1	6	K	237.3	7.4	
	6	15'	235.8	6.1	-1
	6	45'	238.5	7.5	+1
Gr.2	9	K	202.7	11.6	
	9	75'	209.5	6.1	+3
	9	90'	206.7	6.9	+2
Gr.3	11	K	212.0	6.1	
	11	105'	200.7	5.1	-5
	11	120'	197.0	7.4	-7

Tabelle 2: Kontrollwerte K und Messwerte der Farbstoffausbreitung unter Adrenalindauerinfusion und Applikation von Na-Salicylat

2. Analyse und Interpretation der Testergebnisse

Versuchsreihe I, Gruppe 1-3

zur Hyaluronidaseaktivität unter
Adrenalin.

Ohne weitere Beeinflussung zeigen die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln gegenüber den bloßen Farbstoffquaddeln im beobachteten Zeitraum eine sehr deutliche Vergrößerung ($p < 0.001$) um mittlere 6 % der Flächeneinheiten mit maximalen Werten zwischen 50 und 70 min nach Beginn der Adrenalin-dauerinfusion. Diese Quaddelausbreitung kehrt sich im später beobachteten Zeitraum von 95 bis 110 min nach Beginn der Dauerinfusion in eine deutliche Verkleinerung ($p < 0.01$) um maximal mittlere 23 % gegenüber Kontrollwerten vor Infusion von Adrenalin, die jedoch in geringerem Maß mit maximal mittleren 11 % und mit Sicherheit ($p < 0.05$) auch an den bloßen Farbstoffquaddeln festzustellen ist.

Beob.zeiten in min	Varianz- komponente	FG	SAQ	MAQ	F _{emp}	P
<u>Farbstoffquaddeln</u>						
I. Gr.1	gesamt	17	2707	-	-	-
K-15'-45'	zw.Tieren	5	2222	444.4	11.02	< 0.001
	zw.Stufen	2	82	41.	1.01	> 0.05
	Rest	10	403	40.3	-	-
I. Gr.2	gesamt	17	5791	-	-	-
K-75'-90'	zw.Tieren	5	4630	926.	8.22	< 0.01
	zw.Stufen	2	33	16.5	0.14	> 0.05
	Rest	10	1128	112.8	-	-
I. Gr.3	gesamt	17	4044	-	-	-
K-105'-120'	zw.Tieren	5	2856	571.2	13.04	< 0.001
	zw.Stufen	2	750	325.	7.40	< 0.05
	Rest	10	438	43.8	-	-

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln

I. Gr.1	gesamt	17	7908	-	-	-
K-15'-45'	zw.Tieren	5	4732	946.4	3.49	< 0.05
	zw.Stufen	2	462	231.	0.85	> 0.05
	Rest	10	2714	271.4	-	-
I. Gr.2	gesamt	17	8580	-	-	-
K-75'-90'	zw.Tieren	5	6306	1061.2	20.85	< 0.001
	zw.Stufen	2	1766	883.	17.39	< 0.001
	Rest	10	508	50.8	-	-
I. Gr.3	gesamt	17	12245	-	-	-
K-105'-120'	zw.Tieren	5	2665	533.	0.86	> 0.05
	zw.Stufen	2	6079	3037.5	8.66	< 0.01
	Rest	10	3501	350.1	-	-

Tabelle 4: Varianzanalysen zur Versuchsreihe I

Versuchsreihe II, Gruppe 1-3

zum Einfluß von Na-Salicylat unter
Adrenalin.

Die Meßwerte unter Einfluß einer einmaligen Applikation von Na-Salicylat weisen der statistischen Varianzanalyse zufolge über den gesamten Zeitraum weg für beide Quaddeltypen nur zufällige Unterschiede auf, so daß auf Grund dieser Versuchsreihe gegenüber der Versuchsreihe I ohne den Einfluß von Na-Salicylat nicht von einer eigentlichen Vergrößerung oder Verkleinerung der gesetzten Quaddeln zu sprechen ist.

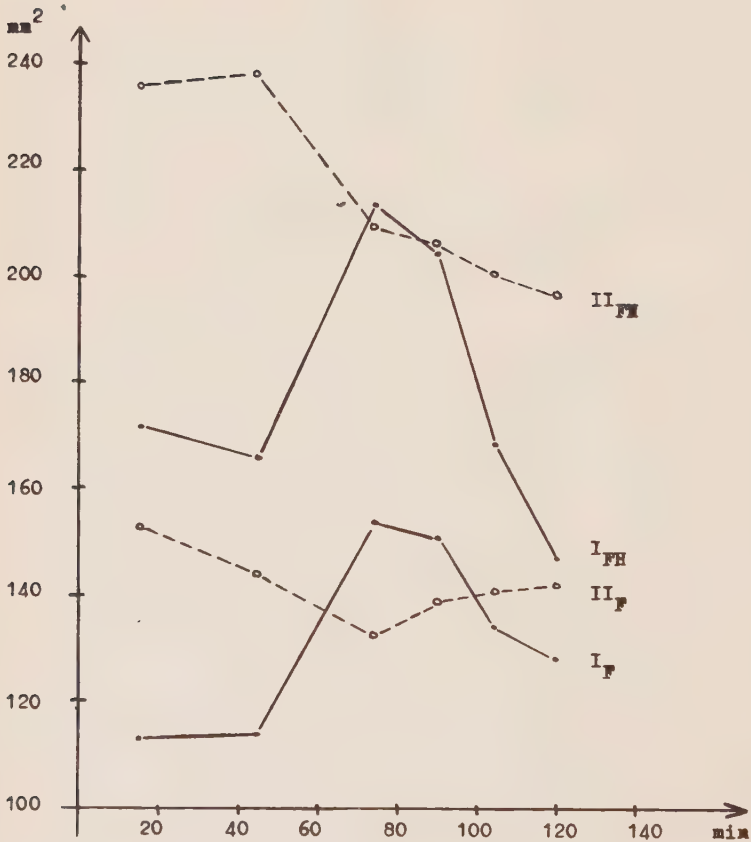
Beob.zeiten in min	Varianz- komponente	FG	SAQ	MAQ	F _{emp}	P
<u>Farbstoffquaddeln</u>						
II. Gr.1	gesamt	17	4440	-	-	-
K-15'-45'	zw.Tieren	5	2496	499.2	3.31	> 0.05
	zw.Stufen	2	437	218.5	1.45	> 0.05
	Rest	10	1507	150.7	-	-
II. Gr.2	gesamt	26	3108	-	-	-
K-75'-90'	zw.Tieren	8	1902	238.5	4.34	< 0.01
	zw.Stufen	2	321	160.5	2.92	> 0.05
	Rest	16	879	54.9	-	-
II. Gr.3	gesamt	32	8020	-	-	-
K-105'-120'	zw.Tieren	10	5188	518.8	4.21	< 0.01
	zw.Stufen	2	368	184.	1.49	> 0.05
	Rest	20	2464	123.2	-	-

Tabelle 5a: Varianzanalysen zur Versuchsreihe II

Beob.zeiten in min	Varianz- komponente	FG	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
<u>Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln</u>						
II. Gr.1	<u>gesamt</u>	17	4506	-	-	-
K-15'-45'	zw.Tieren	5	3738	747.6	10.10	0.01
	zw.Stufen	2	22	11.	0.14	0.05
	Rest	10	746	74.6	-	-
II. Gr.2	<u>gesamt</u>	26	16079	-	-	-
K-75'-90'	zw.Tieren	8	4723	590.3	8.50	0.001
	zw.Stufen	2	202	101.	0.14	0.05
	Rest	16	11154	697.1	-	-
II. Gr.3	<u>gesamt</u>	32	8020	-	-	-
K-105'-120'	zw.Tieren	10	5188	518.8	4.21	0.01
	zw.Stufen	2	368	184.	1.49	0.05
	Rest	20	2464	123.2	-	-

Tabelle 5 b: Varianzanalysen zur Versuchsreihe II

IV. Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse



Darstellung 2:

Mittelwerte der Messungen zur Farbstoffausbreitung bei Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln (F und FH) im beobachteten Zeitraum bis 120 min (nicht normiert).

V. Zusammenfassung der statistischen
Auswertung

Den Beobachtungen der vorliegenden Versuche zufolge ist eine Verkleinerung der Farbstoff- wie der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln im Zeitraum 90 bis 105 min und eine Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln 60 bis 75 min nach Beginn der Adrenalininfusion zu sichern.

Die Beobachtungen bei Applikation von Na-Salicylat unter gleichen Versuchsbedingungen lassen dagegen für beide Quaddeltypen auf keine mathematisch statistisch gesicherten Veränderungen schließen.

Diskussion

Die Versuchsergebnisse bestätigen zunächst die von M a t h i e s und S c h l i e r f (13) getroffene Feststellung, daß während einer Adrenalindauerinfusion bei adrenaletomierten Tieren keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität sichtbar wird. Diese tritt vielmehr erst nach Absetzen der Adrenalinapplikation auf. Ähnliche Versuche wie in der vorgelegten Arbeit wurden auch von G e n n i n g (56) mit Phenylbutazon statt Natrium-Salicylat bei sonst gleicher Versuchsanordnung durchgeführt. Er kam zu den gleichen Ergebnissen, wonach während der Adrenalindauerinfusion unter Phenylbutazon keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität auftritt. Nach Absetzen der Adrenalininfusion kam es jedoch zu einer Hyaluronidasehemmung, wie sie auch von M a t h i e s und S c h l i e r f (13) nach Absetzen einer Adrenalindauerinfusion ohne Phenylbutazon beobachtet wurde. Dieser Effekt ist durch das Absinken des Katecholaminblutspiegels bedingt, welches, wie oben ausgeführt, eine Hyaluronidasehemmung bewirkt. Auffallenderweise kam es in eigenen Versuchen - bei Betrachtung der Mittelwerte - nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion nicht zu einer Hyaluronidasehemmung, wenn während der Adrenalinapplikation Natrium-Salicylat gegeben wurde. Wohl zeigten einige Tiere eine deutliche Abnahme der Hyaluronidase-Aktivität, während andere ein gegensinniges Verhalten zeigten und wieder andere keine wesentliche Abweichung gegenüber den Vorwerten aufwiesen. Daraus resultiert im Mittel keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion. Eine Erklärung für diesen Effekt des Natrium-Salicylates kann nicht gegeben werden. Es ist nicht möglich, daß Natrium-Salicylat das Absinken des Katechol-

aminblutspiegels verzögert, da in diesem Falle eine Natrium-Salicylatapplikation bei intakten Tieren ohne Adrenalininfusion nicht zu einer Hyaluronidasehemmung in relativ kurzem Zeitraum führen würde, weil die Hyaluronidasehemmung durch Natrium-Salicylat immerhin auch durch andere hyaluronidasehemmende Substanzen, vermutlich infolge einer Adrenalinfreisetzung aus dem Nebennierenmark zustande kommt.

Auch ein peripher angreifender Mechanismus im Sinne einer Blockade, welche die Adrenalinapplikation gar nicht erst zur Wirkung kommen läßt, wodurch auch ein Absinken des Katecholaminblutspiegels peripher nicht effektiv würde, scheidet sicher aus. Natrium-Salicylat wurde 10 Minuten nach Beginn der Adrenalininfusion gegeben. Zu diesem Zeitpunkt müßte nach den früheren Versuchen die Adrenalinwirkung bereits vorhanden sein. Auch müßte man unter der Voraussetzung eines solchen Wirkungsmechanismus erst recht erwarten, daß eine Hyaluronidasehemmung durch Katecholaminfreisetzung aus dem NNM als Folge einer Natrium-Salicylatapplikation bei intakten Ratten nicht zu einer Hyaluronidasehemmung führt.

Da einige Tiere jedoch eine Hyaluronidasehemmung erkennen ließen und andere ein gegensinniges Verhalten zeigten, ist am ehesten anzunehmen, daß bei manchen Tieren ein nicht näher bekannter gegenregulatorischer Mechanismus wirksam wird. Versuchsfehler dürften ebenfalls nicht vorliegen, da nach den ersten Versuchsergebnissen die Tierzahl in dieser Versuchsreihe erhöht wurde, wobei die Erhöhung der Tierzahl die Mittelwerte nicht wesentlich veränderte.

Zusammenfassung

In Ergänzung zu früheren tierexperimentellen Ergebnissen wurde untersucht, ob auch ein peripherer Mechanismus für die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität nach entsprechenden Substanzen in Frage kommt. Adrenalektomierten Ratten wurde über längere Zeit eine Adrenalindauerinfusion appliziert. Während der Infusion wurde an Hand einer bereits früher beschriebenen Farbstoff - Farbstoff + Hyaluronidase - Quaddelmethode der Einfluß von Natrium-Salicylat auf die Hyaluronidase-Aktivität gemessen.

Die Versuchsergebnisse bestätigen zunächst die Feststellung anderer Autoren, daß während einer Adrenalindauerinfusion bei adrenalektomierten Tieren keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität auftritt. Weiterhin wurde festgestellt, daß nach Natrium-Salicylat während der Dauerinfusion ebenfalls keine Hemmung auftritt, wodurch ein peripherer Mechanismus für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung durch Natrium-Salicylat ausgeschlossen werden kann.

Im Gegensatz zu früheren Versuchsergebnissen fand sich nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion unter Einfluß von Natrium-Salicylat keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität. Wohl zeigten einige Tiere eine deutliche Hyaluronidasehemmung, während andere ein gegensinniges Verhalten zeigten und wieder andere keine wesentliche Abweichung gegenüber Vorwerten aufwiesen. Daraus resultiert im Mittel keine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität.

Es wurden verschiedene Möglichkeiten zur Klärung dieses Verhaltens von Natrium-Salicylat diskutiert. Da auch Versuchsfehler weitgehend ausgeschlossen werden konnten, muß diese Frage jedoch vorerst offen bleiben.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 64, 617 (1958)
- 2) Mathies, H. u. Jankowsky, A.: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 3) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch. XIV, 160 (1960)
- 5) Mathies, H.: Ztschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 6) Mathies, H.: Int. Ges. Moorforsch., S. 99 (1958)
- 7) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 8) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Ztschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
- 9) Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 791 (1957)
- 10) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 17, 375 (1958)
- 11) Mathies, H. u. v. Werther, G.: Ztschr. angew. Bäder-Klimahk. 5, 582 (1958)
- 12) Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 13) Mathies, H. u. Schlierf, G.: Med. exp. 2, 333 (1960)
- 14) Mathies, H.: Arch. Int. Pharmacodyn. et Ther. CXXIII, 334 (1960)
- 15) Mathies, H., Glück, A. Poulantzas, I. u. Schmidt, D.; Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 16) Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 65, 447 (1959)
- 17) Mathies, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 240, 31 (1960)
- 18) Mathies, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 19) Sayers, G. u. Sayers, M.: Endocrinology 40, 256 (1947)
- 20) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 21) Jung, M.: Diss. München (1960)
- 22) Scheufele, R.: Diss. München (1958)
- 23) Schmidt, D.: Diss. München (1961)
- 24) Brüggemann, J., Karg, H. u. Käppeler, O.: Vitamine u. Hormone 7, 200 (1956)
- 25) Poulantzas, J.: Diss. München (1958)

- 26) Lingnau, W.: Diss. München (1961)
- 27) Weiß, G.: Diss. München (1960)
- 28) Vogel, M.: Diss. München (1960)
- 29) Bein, H.J. u. Meier, R.: Schweiz.med.Wschr.
81, 446 (1951)
- 30) Oestreich, G.: Diss. München (1960)
- 31) Schwalbach, K.: Diss. München (1959)
- 32) Fellingner, K. u. Schmid, J.: Österr.Ärzte-
kongr.d.van Swieten-Ges.,
Salzburg, 7.9.-9.9.1953
- 33) Kramer, H.J.: Diss. München (1959)
- 34) Forst, A.W.: persönliche Mitteilung
- 35) Marlorni, G.: Dtsch.med.J. 4, 1 (1955)
- 36) Meckel, E.: Diss. München (1961)
- 37) Eckelmann, R.: Diss. München (1961)
- 38) Reindl, W.: Diss. München (1960)
- 39) Kontis, N.: Diss. München (1961)
- 40) Ahlheim, G.: Diss. München (1961)
- 41) Király, E.: Diss. München (1961)
- 42) Kroneberg, G. u. Schumann, H.J.: Arznei-
mittelforschung 7, 279 (1957)
- 43) Zbender, G. u. Studer, A.: Experientia XIV,
201 (1958)
- 44) Schmidt, K.: Wien.Klin.Wschr.69, 27 (1957)
- 45) Holtz, P.: Dtsch.med.Wschr. 83, 681 (1957)
- 46) Callingham, B.H. u. Mann, M.: Nature 182,
1020 (1957)
- 47) Maxwell, A., Plummer, A.J., Osborne, M.W.
u. Rose, S.: J.Pharm.Exp.Therap.
116, 1101 (1956)
- 48) Kroneberg, G.: Pharmazeut.Zeitung 102, 1193
(1957)
- 49) Burger, M.: Helv.physiol.Acta 14, C 13 (1956)
- 50) Pletscher, A.: Schweiz.med.Wschr. 87, 1532 (1957)
- 51) Holzbauer, M. u. Vogt, M.: Neurochem.J. 1, 8
(1956) zit.Kroneberg, G. (48)
- 52) Bertler, A., Carlsson, A. u. Rosegren, E.:
Naturwissenschaften 43, 521 (1956)

- 53) Takemoto, J., Shore, P.A., Tomich, E.G.,
Kuntzman, R., Brodie, B.B.:
J.Pharmak.exp.Ther.119,188(1957)
- 54) Brodie, B.B., Olim, J.S., Kuntzman, R.G.u.
Shore, P.A.: Science 125,1293(1957)
- 55) Genning, H.D.: Diss. München, in Vorbereitung
- 56) Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 57) Canalis, P.: Int. Mschr.Anat. 4, 1887, 312
- 58) Bachmann, R.: Handbuch mikr.Anat.d.Menschen
VI/5 (1954), 222 ff., Springer-
Verlag, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg
- 59) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (20)
- 60) Madinaveitia, J.: Biochemic J., 32, 1806
(1938)
- 61) Gibian, H.: Erg.d.Enzymforsch.13, 1 (1954)

Ich danke Herrn Professor Dr. W.Seitz für die Überlassung des Themas und Herrn Priv.Doiz. Dr. H.Mathies für die Anregung zu dieser Arbeit und die Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas. Herrn Walter Joh. Ziegler bin ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen dankbar.

Lebenslauf

Am 22.4.1941 wurde ich in Pforzheim geboren, besuchte in Neuenbürg die Volksschule, danach das Gymnasium in Neuenbürg und bestand Ostern 1960 die Reifeprüfung.

Nach einjähriger Wehrdienstzeit begann ich 1961 mein Medizinstudium an der Universität München. Dort studierte ich acht Semester. Ein Semester studierte ich in Tübingen, um dann im zehnten Semester nach München zurückzukehren. Hier werde ich im Frühjahr 1967 mit dem medizinischen Staatsexamen beginnen. Seit Herbst 1963 war ich an der Medizinischen Poliklinik München mit der Bearbeitung meines Promotions-Themas beschäftigt.

